

ULTRASONOGRAFI PERKEMBANGAN FOLIKEL OVARIA SELAMA SIKLUS ESTRUS DAN KEBUNTINGAN AWAL PADA SAPI PERANAKAN ONGOLE (PO)

(Ultrasonography of Ovarian Follicular Development During Estrous Cycle and Fetus Early Pregnancy in Ongole-Crossbred Cows)

Supriyanto¹, Pramu² dan N. Ahadiati³

^{1,2)} Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Magelang
Jl. Magelang-Kopeng Km 7 Purwosari Tegalrejo Magelang 56192
✉ E-mail : stppsupriyanto@gmail.com

³⁾ Balai Penyuluhan Pertanian Berau Kabupaten Hulu Sungai Tengah
✉ E-mail : nettyachadiati@yahoo.com

Diterima : 4 November 2015

Disetujui : 25 Juni 2016

ABSTRACT

This research has aim to know development of ovarian follicles during estrous cycle and early pregnancy. A total of twelve Ongole-crossbred cows were synchronized using protaglandin, then ultrasonographically examined and blood serum were collected consecutively on day 19 (proestrus), day 0 (estrus) or at the time of insemination, day 5 (metestrus), day 15 (diestrus), day 19, day 30 and 60 after insemination. Confirmation on the reproductive status of experimental cows was performed by determination on the concentration of estrogen and progesterone hormones. Ultrasonography examination during estrous cycle and early pregnancy showed development images of follicles that on stage proestrus and estrus showed follicles, stage metestrus, diestrus and early pregnancy changes become corpus luteum. Estrogen levels (pg / ml) vs. progesterone (ng / ml) showed that a. 19 days after estrus (8.611 ± 0.126 and 1.422 ± 0.097), b. Estrus (15.844 ± 0.150 and 0.866 ± 0.100), c. Metestrus 5 days after IB (3.667 ± 0.281 vs 2.788 ± 0.153); d. Diestrus 15 days after IB (4.044 ± 0.235 vs 7.076 ± 0.122); e. Pregnant 30 days after IB (4.272 ± 0.101 vs 8.186 ± 0.120).

Key words: *ultrasonography, ovarian follicle, corpus luteum, fetus.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan folikel ovarium selama siklus estrus dan awal kehamilan. Sebanyak dua belas sapi Ongole-persilangan yang disinkronisasi menggunakan prostaglandin, kemudian diperiksa melalui ultrasonografi (USG) dan diambil serum darah berturut-turut pada hari 19 (proestrus), hari 0 (estrus) atau pada saat inseminasi, hari 5 (metestrus), hari 15 (diestrus), hari 19, hari 30 dan 60 setelah inseminasi. Penegasan status reproduksi sapi eksperimental dilakukan dengan penentuan konsentrasi estrogen dan progesteron. Pemeriksaan ultrasonografi selama siklus estrus dan awal kehamilan menunjukkan gambar perkembangan folikel tahap metestrus, diestrus dan awal kehamilan perubahan menjadi corpus tingkat luteum. Estrogen (pg / ml) vs progesteron (ng / ml) menunjukkan bahwa 19 hari setelah estrus ($8,611 \pm 0,126$ dan $1,422 \pm 0,097$), b. Estrus ($15,844 \pm 0.150$ dan $0,866 \pm 0.100$), c. Metestrus 5 hari setelah IB

(3,667 ± 0,281 vs 2,788 ± 0,153); d. Diestrus 15 hari setelah IB (4,044 ± 0,235 vs 7,076 ± 0,122); e. bunting 30 hari setelah IB (4,272 ± 0,101 vs 8,186 ± 0,120).

Kata kunci: ultrasonografi, folikel ovarium, korpus luteum, janin.

PENDAHULUAN

Teknik ultrasonografi prinsipnya berdasarkan aplikasi gelombang suara frekuensi tinggi (*ultrasound*) yang dipantulkan dari suatu *transducer* (transduser, *probe* atau *scanner*) dan diterima kembali oleh transduser tersebut berdasarkan sifat ekhogenik (memantulkan) maupun non-ekhogenik (tidak memantulkan) gelombang ultra suara. Pantulan akan diubah menjadi impuls listrik yang ditayangkan sebagai *imej* noktah-noktah cerah (*bright dots*) pada layar monitor (Beal, 2003; Faber and Ferre, 2004).

Dunia kedokteran veteriner aplikasi ultrasonografi sudah banyak dilakukan, termasuk untuk pemeriksaan reproduksi hewan besar, seperti pemeriksaan ovaria, uterus dan untuk diagnosa kebuntingan. Kelebihan dari teknik ini adalah dapat memberi gambar pencitraan *imej* langsung secara akurat pada jaringan atau organ yang diperiksa, dimana dapat digunakan untuk diagnosa kebuntingan dini, menentukan jenis kelamin fetus (*fetal sexing*), diagnosa kebuntingan kembar, serta diagnosa kematian fetus dini (*early embryonic death*) (Fricke, 2002 ; Faber and Ferre, 2004).

Di Indonesia teknik ultrasonografi pada umumnya dilakukan pada kedokteran manusia antara lain digunakan pemeriksaan alat reproduksi dan diagnosa kehamilan, sedangkan pada ternak besar sampai saat ini hasil penelitian ataupun laporan belum ada. Mengingat kelebihan teknik ini dapat memberi gambar pencitraan *imej* langsung secara akurat pada jaringan atau organ yang

diperiksa, serta sampai dengan saat ini belum ada hasil penelitian ataupun laporan tentang gambaran perkembangan folikel ovarium pada ternak besar, maka kami ingin mempelajari gambaran perkembangan folikel ovarium pada sapi Peranakan Ongole (PO) selama siklus estrus dan kebuntingan awal.

Estrogen

Estrogen terdiri dari 18 atom karbon dengan inti steroid *cyclopentano perhydro phenanthrene*, sedangkan atom karbon yang ke-18 tertaut pada karbon nomor 13 inti tersebut (Swenson and Reece, 1993). Pada hewan betina, estrogen disintesa dan dibebaskan kedalam sirkulasi darah oleh ovarium, plasenta dan korteks adrenal (Echternkamp *et al.*, 2004). Pada umumnya, estrogen tidak tertimbun dalam kelenjar endokrin. Efek biologis estrogen pada umumnya pendek. Bagian yang paling penting ovarium yang memproduksi estrogen adalah sel-sel teka interna (Shemesh, 2001).

Sintesa estrogen berasal dari asam asetat yang mengalami 11 tahapan reaksi untuk menjadi kolesterol. Kolesterol akan menjadi progesteron diperlukan 4 tahapan reaksi dan progesteron ke estrogen diperlukan 3 - 7 tahapan reaksi, dengan adanya asetil-koA (Austin *et al.*, 2002). Estrogen merupakan hormon steroid yang berfungsi untuk menekan pembentukan FSH dan merangsang keluarnya LH yang secara aktif mempertahankan sifat-sifat kelamin sekunder hewan betina (Shemesh, 2001).

Estrogen dihasilkan oleh sel teka interna folikel de Graaf, dan berfungsi untuk mempertahankan alat kelamin betina dan sifat-sifat kelamin sekunder, tingkah laku kelamin dan stimulasi kelenjar susu (Mondal *et al.*, 2006). Estrogen juga berfungsi dalam penyerapan kalsium (Ca) usus, menyebabkan perubahan sistem vaskuler, merangsang pertumbuhan oviduk, berperan dalam deposisi Ca ekstra pada tulang dan mengontrol sekresi gonadotropin dalam mekanisme umpan balik (Berisha *et al.*, 2002). Selain itu, estrogen merangsang dalam retribusi dan deposisi jaringan lemak tubuh (Olivera *et al.*, 2002).

Swenson and Reece (1993) menyatakan, bahwa estrogen mempunyai fungsi fisiologis untuk menimbulkan estrus. Beberapa peneliti melaporkan, bahwa estradiol benzoat bersifat luteolitik (Allrich, 2001). Selama siklus estrus, pada saat konsentrasi progesteron menurun (<1ng/ml) akan menyebabkan estrus melalui umpan balik positifnya pada pusat hipotalamus-hipofisis (Robinson *et al.*, 2001). Estrogen pada uterus berpengaruh dengan ditandai meningkatnya jumlah massa endometrium dan miometrium. Kenaikan konsentrasi estrogen akan menyebabkan hipertrofi sel-sel endometrium dan miometrium. Estrogen juga bekerja pada uterus untuk kontraksi melalui pengaruh oksitosin dan prostaglandin (FGF_{2α}) (Prange and Duby, 2004).

Estrogen mengontrol mekanisme umpan balik negatif dan positif terhadap pelepasan LH dan FSH kelenjar hipofisa. Mekanisme umpan balik negatif terjadi jika estrogen dan progesteron menghambat pelepasan gonadotropin (Shemesh, 2001). Sedangkan, umpan balik positif terjadi jika estrogen dan progesteron menstimulasi

pelepasan gonadotropin, seperti LH (Kimmins and Maclaren, 2001).

Peningkatan sensitivitas hipotalamus terhadap umpan balik positif estrogen-17β diduga berkaitan dengan kenaikan LH melalui peningkatan pelepasan *gonadotropin-releasing hormone* (Gn-RH) (Shemes, 2001). Konsentrasi estradiol-17β meningkat selama fase folikel dan ada hubungan positif antara konsentrasi estrogen dengan LH. Hal tersebut berarti, bahwa tingginya konsentrasi estrogen benzoat dapat diakibatkan oleh tingginya konsentrasi LH (Bo *et al.*, 2006). Pada domba dan sapi, reseptor estradiol pada endometrium mencapai puncaknya saat estrus dan awal fase lutea, kemudian menurun pada pertengahan sampai akhir fase luteal (Schams and Berisha, 2002). Selanjutnya, Bridges and Fortune (2003) menyatakan, bahwa kenaikan konsentrasi estradiol benzoat setelah hari ke 7 tidak menghalangi fungsi uterus.

Penurunan fertilitas dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi estradiol-17β pada alat reproduksi betina yang selanjutnya akan mempengaruhi angka konsepsi karena mematikan spermatozoa (Allrich, 2001). Sekresi estradiol benzoat lebih tinggi normal di awal fase luteal atau selama induk bunting dan dianggap membahayakan fertilitas sapi selama siklus estrus normal (Austin *et al.*, 2002).

Estrogen bekerja secara sinergis dengan progesteron untuk menstimulasi sekresi protein endometrium. Estrogen terutama menstimulasi proses pertumbuhan, sedangkan progesteron diperlukan untuk menstimulasi diferensiasi jaringan endometrium (Mann, 2003; Wattiaux, 2003). Selanjutnya, dilaporkan, bahwa progesteron tidak berpengaruh pada alat reproduksi jika diberikan secara sendiri-sendiri, tetapi berpengaruh nyata jika

sebelumnya diberikan estrogen (Perry, 2004).

Progesteron

Progesteron adalah hormon steroid yang terdiri 21 atom karbon dan merupakan substansi intermedia sintesa androgen, estrogen dan kortison (Gambar 2). Progesteron disintesa oleh ovarium, korteks kelenjar adrenal dan plasenta (Swenson and Reece, 1993), serta testis (Parker and Mathis, 2002).

Ovarium merupakan tempat produksi progesteron yang paling banyak, terutama pada bagian folikel, sel-sel ovarium dan korpus luteum (Parker and Mathis, 2002). Sintesa hormon progesteron berasal asam asetat yang mengalami 11 tahapan reaksi untuk menjadi kolesterol, kolesterol menjadi progesteron diperlukan 4 tahapan reaksi (Austin *et al.*, 2002). Korpus luteum adalah jaringan ovarium yang paling banyak menghasilkan progesteron. Korpus luteum dipertahankan dan dibawah pengaruh *luteotropic hormone* (LTH) (prolaktin) dari adenohipofisa. Sel-sel lutein menghasilkan progesteron yang sangat esensial sepanjang masa kebuntingan pada sapi (Oliveira *et al.*, 2002). Progesteron memiliki efek pada perkembangan folikel yang lebih jelas (Berisha *et al.*, 2002).

Fungsi utama progesteron adalah memelihara kebuntingan dengan jalan menghambat kontraksi uterus dan memacu perkembangan kelenjar di endometrium (Spencer and Bazer, 2002). Progesteron berfungsi dalam proses implantasi, mempertahankan dan memelihara kebuntingan, menstimulasi kelenjar susu, dan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan embrio selama kebuntingan. Progesteron juga menghambat pelepasan LH dan FSH. Hormon LH dan FSH akan

merangsang perkembangan akhir dan pematangan folikel (Schams and Berisha, 2002). Selanjutnya, Spencer and Bazer (2002) menyatakan, bahwa progesteron berfungsi menyiapkan uterus untuk implantasi dan memelihara kebuntingan dengan meningkatkan sekresi glandula endometrium dan menghambat motilitas uterus.

Progesteron memiliki arti penting dalam siklus estrus, sehingga dapat digunakan untuk deteksi estrus, pemeriksaan kebuntingan dan kondisi patologis, misalnya adanya anestrus, kista korpus luteum dan abnormalitas fungsi ovarium yang lain (Benvei *et al.*, 2004). Progesteron merupakan hormon yang sangat penting, karena: 1. Kadar progesteron dalam darah dapat menunjukkan aktivitas ovarium (Alvares *et al.*, 2000), 2. Progesteron mendominasi siklus estrus selama 12 - 16 hari (Shemesh, 2001), 3. Progesteron dapat digunakan untuk menduga waktu estrus pada sapi, yaitu jika konsentrasi progesteron turun sampai konsentrasi yang sangat rendah, maka hewan tersebut akan menunjukkan gejala estrus (Wattiaux, 2003), 4. Progesteron dapat digunakan untuk seleksi atau memisahkan hewan bunting dan tidak bunting 17 - 24 hari setelah inseminasi buatan (Shearer, 2003) dan 5. Konsentrasi progesteron dapat digunakan untuk mengetahui kondisi patologis, misalnya anestrus, kista korpus luteum dan abnormalitas fungsi ovarium lainnya (Broodius, 2006).

Konsentrasi progesteron dalam darah merupakan penentu ukuran fungsi korpus luteum dan mencerminkan status reproduksi hewan betina (Perry, 2004). Jika progesteron rendah dalam waktu yang relatif cukup lama dapat mengakibatkan hipofungsi ovarium (Nosier, 2003).

Rendahnya progesteron pada penderita hipofungsi ovarium erat hubungannya dengan inaktivitas ovaria sehingga tidak terjadi ovulasi dan korpus luteum tidak terbentuk serta tidak dapat diproduksi progesteron (Wathes *et al.*, 2003). Kekurangan hormon progesteron akan menyebabkan folikel persisten (Sato *et al.*, 2005).

Mekanisme penghambatan kontraksi uterus oleh progesteron belum diketahui dengan pasti, menurut Echternkamp *et al.* (2004) ada 3 macam mekanisme, antara lain : 1. Progesteron diduga mempengaruhi aktivitas kontraksi miometrium melalui perubahan potensi membran. Progesteron akan terikat pada reseptor sitoplasma dan kemudian mengtersebutiasi sintesis protein spesifik, 2. Progesteron mengontrol aktivitas kontraksi uterus melalui sistem pengaktifan katekolamin adenilat dan 3. Progesteron mempengaruhi aktifitas kontraksi uterus melalui penghambatan sintesis dan pelepasan prostaglandin uterus.

Tinggi rendahnya konsentrasi estrogen dan progesteron dalam darah merupakan indikator status ovaria yang dapat memberikan gambaran spesifik fungsi ovaria sapi (Noseir, 2003). Selanjutnya, Nogueira *et al.* (2004) menyatakan, bahwa uji progesteron dapat digunakan sebagai indikator awal status kebuntingan, yang dapat digunakan sebagai alat untuk membuat keputusan lebih awal atas pengafkiran dan pengawinan ulang pada sapi perah. Hasil uji progesteron jika dikombinasikan dengan praktek manajemen peternakan yang bagus, dapat digunakan untuk memprediksi secara cepat dan akurat status reproduksi ternak.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini menggunakan dua belas (12) ekor sapi Peranakan Ongole (PO) betina dewasa umur 3 sampai 4 tahun, sehat, tidak pernah mempunyai riwayat gangguan reproduksi sebelumnya, berat badan 250–350 kg, mempunyai korpus luteum fungsional (saat pemeriksaan explorasi rektal sebelum sinkronisasi).

Sapi perlakuan disinkronisasi dengan sintetik protaglandin (*Prostavet C, Virbac Laboratories, 06516 Carros, France*) dengan dosis 2 mg/ekor. Kemudian dilakukan ultrasonografi dan dikoleksi darah dari vena jugularis sebanyak 8 ml dengan venojek (*VenojectTM, Bectom dickinson, Rutherford, NJ, USA*) berturut-turut; pada hari ke 2 (proestrus) setelah sinkronisasi, hari saat sapi menunjukkan gejala estrus dan dilakukan Inseminasi Buatan (IB) menggunakan semen produksi Balai Inseminasi Buatan Ungaran, pada hari ke 5 setelah IB (stadium metestrus), hari ke 15 setelah IB (stadium diestrus), hari ke 30 setelah IB (stadium kebuntingan) dan ke 60 setelah IB (Hafes, 1993).

Sampel darah untuk mengetahui konsentrasi hormon estrogen dan progesteron dalam serum dengan uji ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) digunakan untuk mendukung validitas hasil ultrasonografi. Hasil gambaran perkembangan folikel dengan ultrasonografi yang diperoleh diolah secara diskriptif sedangkan data konsentrasi hormon estrogen dan progesteron yang diperoleh diolah dengan uji Anova untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan (Snedecor and Cochran, 1980).

Metode

Pemeriksaan secara ultrasonografi, sapi betina yang akan diperiksa dalam keadaan bersih dan direstrin dengan baik, kemudian mengeluarkan seluruh kotoran yang ada didalam rektum secara eksplorasi rektal dan membersihkan kembali seluruh permukaan rektum serta alat kelamin bagian luar. Alat ultrasonografi (*Honda Electronics HS 2000 VET*) dipersiapkan sampai dengan layak untuk digunakan, serta mengingat keamanan alat dari gangguan sapi yang diperiksa apabila ada hal-hal yang tidak diinginkan terjadi.

Transduser linier 9.0 MHz digunakan dalam pemeriksaan ini, sebelum transduser digunakan perlu diberi cairan *jelly* sebagai medium perantara (*coupling gel* atau *couplant*) digunakan *methyl cellulose jelly*, ini sangat penting karena mencegah adanya ruang udara yang tersekap antara jaringan tubuh hewan dan transduser, dimana ruang udara dapat juga memantulkan kembali gelombang suara.

Secara eksplorasi rektal transduser diarahkan pada organ ovarium dimana folikel atau korpus luteum berada sampai dengan gambaran imej baik folikel atau korpus luteum yang dikehendaki terlihat pada layar monitor.

Uji ELISA, serum dikoleksi melalui vena jugulararis, sampel dibiarkan mengumpal kemudian disentrifuse (5000 rpm, 10 menit) dan selanjutnya disimpan pada suhu -80°C selama 30 menit sebelum dianalisis. Untuk mengetahui konsentrasi hormon estrogen digunakan *Estradiol Elisa kit Cat # 920 (Alpha Diognotic International, San antonio USA)* dan untuk hormon progesteron digunakan *progesterone Elisa kit Cat # 1860 (Alpha Diognotic International, San antonio USA)* dengan prosedur kerja sebagai berikut :

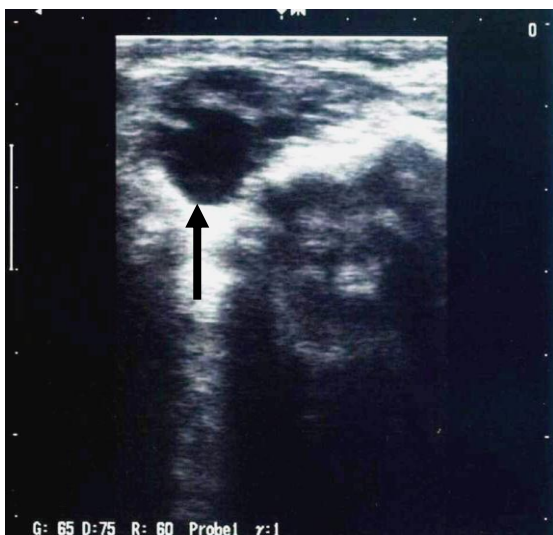
1. Cara kerja untuk mengetahui konsentrasi estrogen : Pertama kali melakukan pengamanan pada sumuran-sumuran yang telah dilapisi dengan *anti-Mouse immunoglobulin (IgG)*, kemudian dimasukkan 50 μl serum standart (dilakibrasi 0-6000 pg/ml), kontrol dan sampel kedalam sumuran sesuai dengan tempatnya, serta 100 μl larutan konjugat enzim estradiol dimasukkan pada seluruh sumuran kemudian diinkubasi 60 menit pada suhu kamar. Campuran larutan dibuang dan dicuci pada masing-masing sumuran sebanyak 3 kali dengan larutan buffer, selanjutnya dimasukkan 150 μl *horsedish peroksidase (HRP)* substrat *tetramethybenzidine (THB)* berwarna biru pada masing-masing sumuran dan diinkubasi 10 menit pada suhu kamar. Reaksi dihentikan setelah 10 menit dengan menggunakan 50 μl larutan 2N HCl hasil reaksi (absorban) dapat dibaca pada 450 nm dengan pembaca mikroplate. Kros reaksi pada pengujian tidak ada karena pengujian ini hanya mengenali dan spesifik untuk estradiol-17 β , sedangkan reaksi dengan hormon yang lain mungkin hadir dalam sampel pasien tidaklah dideteksi, dengan tingkat sensitifitas 10 pg/ml.
2. Cara kerja untuk mengetahui konsentrasi hormon progesterone adalah sebagai berikut : Pertama melakukan pengamanan pada sumuran-sumuran yang telah dilapisi dengan *anti-Mouse IgG* kemudian dimasukkan 10 μl serum standart (dikalibrasi 0-40ng/ml), kontrol dan sampel kedalam sumuran sesuai dengan tempatnya, dilanjutkan dengan menambah 50 μl larutan

antibodi anti progesteron dan 50 μ l larutan konjugat enzim progesteron pada masing-masing sumuran kemudian diinkubasi 60 menit pada suhu kamar. Campuran larutan dibuang kemudian dicuci pada masing-masing sumuran sebanyak 4 kali dengan larutan buffer, setelah itu dimasukkan 100 μ l of HRP substrate A (buffer dengan *hydrogen peroksidase*) dan 100 μ l of HRP substrate B (*tetramethybenzidine*) berwarna biru pada masing-masing sumuran, diinkubasi 30 menit pada suhu kamar. Reaksi dihentikan setelah 30 menit dengan menggunakan 50 μ l larutan 2N HCl absorbennya

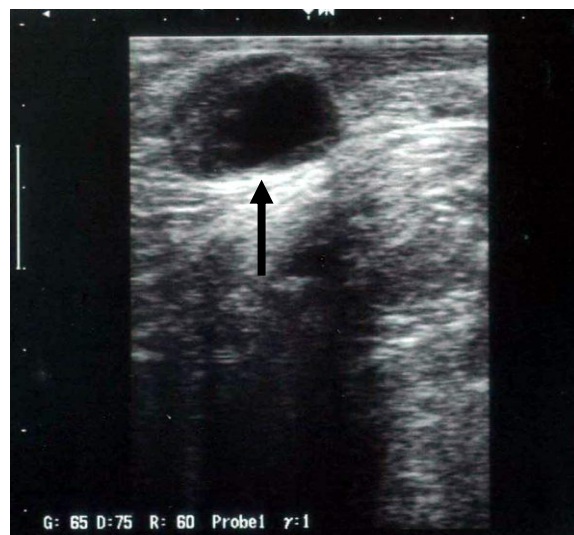
dapat dibaca dengan pembaca mikroplate pada 450 nm. Kros reaksi pada pengujian tidak ada karena pengujian ini hanya mengenali dan spesifik untuk progesteron, sedangkan reaksi dengan hormon yang lain mungkin hadir dalam sampel pasien tidaklah dideteksi dengan tingkat sensitifitas 0,2 ng/ml.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ultrasonografi pada masing-masing tahap selama siklus estrus dan periode kebuntingan awal dapat dilihat pada gambar dibawah :



Ilustrasi 1. Follikel pada stadium proestrus



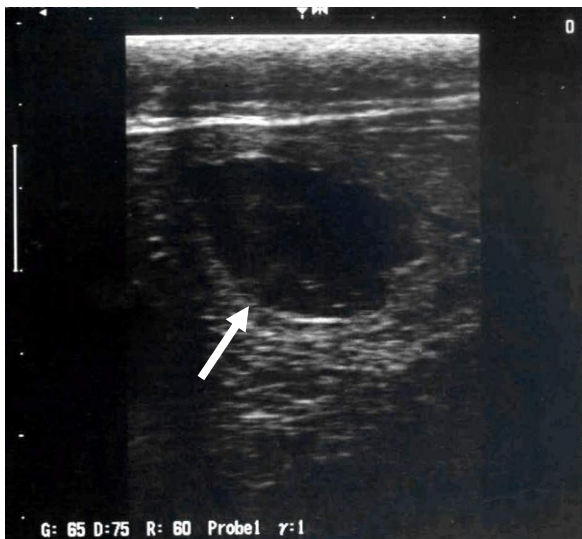
Ilustrasi 2. Follikel pada stadium estrus



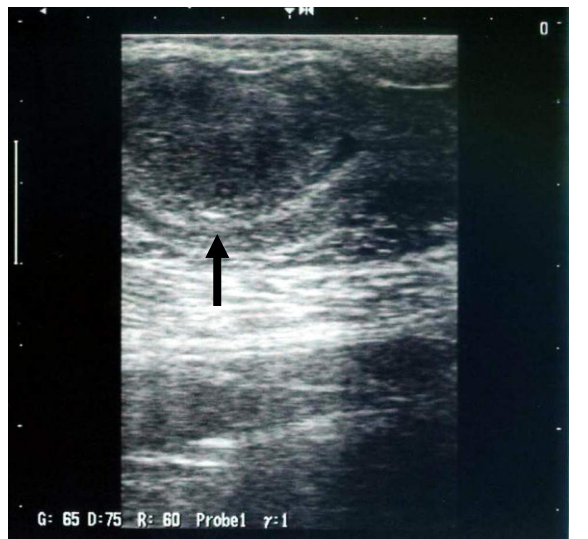
Ilustrasi 3. Korpus luteum pada stadium metestrus (5 hari setelah IB)



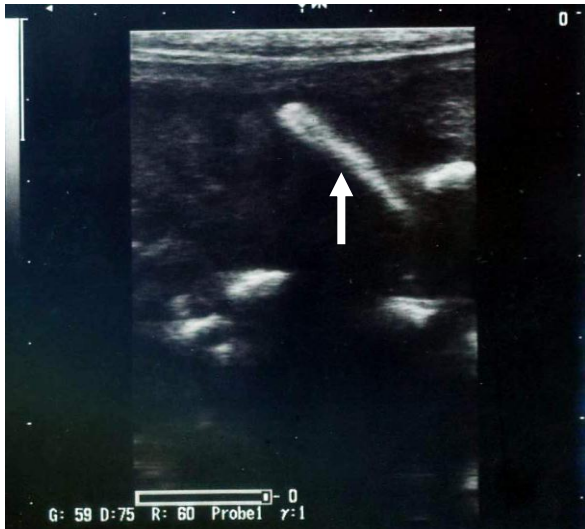
Ilustrasi 4. Korpus luteum pada stadium diestrus (15 hari setelah IB)



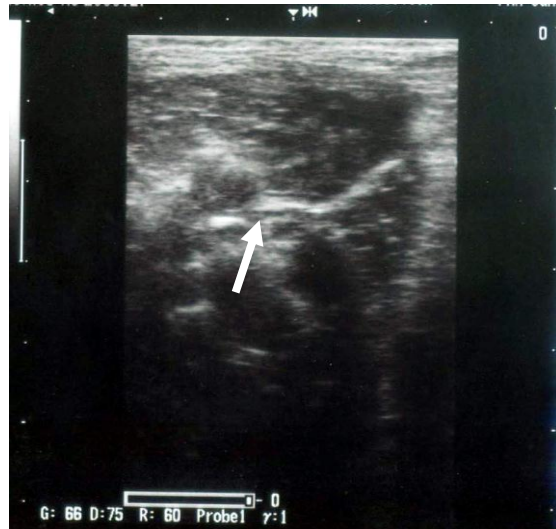
Ilustrasi 5. Kantong amnion pada hari ke 30 setelah inseminasi



Ilustrasi 6. Korpus luteum pada hari ke 30 setelah inseminasi



Ilustrasi 7. Kaki Fetus dalam kantong amnion 60 hari setelah IB.



Ilustrasi 8. Korpus luteum 60 hari setelah IB.

Hasil uji Elisa konsentrasi hormon estrogen dan progesteron dalam serum darah pada sapi PO selama siklus estrus dan periode kebuntingan awal dapat dilihat pada tabel dibawah ini

Tabel.1. Konsentrasi hormon estrogen dan progesteron selama siklus estrus dan kebuntingan dalam serum darah sapi PO.

| Waktu koleksi darah | N | Estrogen (pg/ml) | Progesteron (ng/ml) |
|--|----|-----------------------------|----------------------------|
| 19 hari setelah estrus pertama (proestrus) | 12 | 8,611 ± 0,126 ^a | 1,422 ± 0,097 ^a |
| Estrus kedua dan IB (estrus) | 12 | 15,844 ± 0,150 ^b | 0,866 ± 0,100 ^b |
| Hari ke 5 setelah IB (metestrus) | 12 | 3,667 ± 0,281 ^c | 2,788 ± 0,153 ^c |
| Hari ke 15 setelah IB (diestrus) | 12 | 4,044 ± 0,235 ^d | 7,076 ± 0,122 ^d |
| Hari ke 30 setelah IB (bunting) | 9 | 4,272 ± 0,101 ^e | 8,186 ± 0,120 ^e |
| Hari ke 60 setelah IB (bunting) | 9 | 4,455 ± 0,194 ^f | 8,244 ± 0,142 ^f |

^{a,b,c,d,e,f} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Hasil ultrasonografi pada stadium proestrus terlihat pada Ilustrasi 1. dimana terlihat gambaran folikel berwarna bulat hitam yang dibatasi warna abu-abu dengan diameter (10,16 ± 0,60) mm, hal ini didukung dengan analisa hormonal pada Tabel 1. konsentrasi hormon estrogen sebanyak (8,611 ± 0,126) pg/ml lebih tinggi dibandingkan konsentrasi hormon

progesteron (1,422 ± 0,097) ng/ml, karena folikel merupakan tempat produksi hormon estrogen.

Menurut Ulberg (1993) stadium proestrus lamanya kurang lebih 3,5 hari adalah tahap pemasakan folikel (diameter 6-12 mm) dengan yang diikuti dengan degenerasi korpus luteum dari siklus sebelumnya, dimana konsentrasi

progesteron menurun memungkinkan pelepasan *follikel stimulating hormone* (FSH) yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan folikel, sehingga konsentrasi estrogen meningkat. Folikel tumbuh mengeluarkan hormon estrogen sedangkan hormon progesteron dihasilkan oleh korpus luteum (Allrich, 1994; Andorsen and Mc Day, 1994).

Ilustrasi 2. hasil ultrasonografi pada saat sapi estrus menunjukkan gambaran folikel tergambar bulat berwarna hitam yang dikelilingi warna abu-abu dengan diameter lebih besar dari pada stadium sebelumnya ($21,20 \pm 0,57$) mm, hal ini sesuai dengan hasil analisa hormonal pada Tabel 1. saat estrus konsentrasi hormon estrogen dalam serum darah semakin meningkat menjadi ($15,844 \pm 0,150$) pg/ml, sedangkan konsentrasi progesteron menurun menjadi ($0,866 \pm 0,100$) ng/ml.

Stadium estrus FSH akan merangsang pertumbuhan awal folikel (diameter 12-20 mm) sementara *luteinizing hormone* (LH) diperlukan untuk menuntaskan pertumbuhan folikel tersebut. Folikel tumbuh mengeluarkan hormon estrogen, sedangkan folikel yang sudah masak dinamakan folikel graaf yang menghasilkan estrogen dalam jumlah yang cukup besar, sedangkan hormon progesteron dihasilkan oleh korpus luteum (Allrich, 1994; Andorsen and Mc Day, 1994). Pada saat estrogen cukup tinggi memmicu pelepasan LH yang menyebabkan rupturnya dinding folikel dan terjadi ovulasi sekitar 15-18 jam kemudian (Ryan *et al.*, 1995).

Pada stadium metestrus (hari ke 5 setelah IB) hasil ultrasonografi pada Ilustrasi 3. terlihat gambar korpus luteum bulat berwarna putih abu-abu dengan diameter ($14,96 \pm 0,57$) mm, sedangkan hasil analisa hormonal pada Tabel 1. menunjukkan besarnya konsentrasi estrogen

turun menjadi ($3,667 \pm 0,281$) pg/ml sedangkan progesteron meningkat ($2,788 \pm 0,153$) ng/ml. Menurut Hunter (1992) pada stadium metestrus ditandai dengan penurunnya konsentrasi estrogen dan meningkatnya konsentrasi progesteron dalam darah karena setelah folikel ovulasi berubah bentuk dan fungsi menjadi korpus luteum, dimana korpus luteum berfungsi menghasilkan progesteron. Pada stadium metestrus terdapat korpus luteum diameter ± 8 mm (Hafes, 1993) yang merupakan kelenjar endokrin terbentuk setelah ovulasi dari luteinisasi jaringan yang sebelumnya membentuk folikel ovaria, yang berfungsi untuk mempersiapkan uterus dalam penerimaan ovum yang terfertilisasi atau embrio serta menghasilkan hormon progesteron (Price *et al.*, 1995).

Stadium diestrus (hari ke 15 setelah IB) hasil ultrasonografi terlihat pada Ilustrasi 4. yang menunjukkan adanya gambaran korpus luteum dengan bentuk lonjong berwarna putih abu-abu dengan diameter ($23,64 \pm 0,37$) mm, sedangkan analisa hormonal terlihat pada Tabel 1 dimana konsentrasi estrogen sedikit meningkat ($4,044 \pm 0,235$) pg/ml sedangkan konsentrasi progesteron meningkat menjadi ($8,076 \pm 0,122$) ng/ml.

Stadium diestrus konsentrasi estrogen rendah sedangkan konsentrasi progesteron semakin tinggi karena adanya korpus luteum fungsional dengan diameter (20-25) mm, akhir stadium konsentrasi progesteron turun estrogen mulai meningkat (korpus luteum regresi, folikel berkembang) dan tingginya konsentrasi progesteron akan terus dipertahankan bila terjadi kebuntingan (Hunter, 1992; Hafes, 1993). Selajutnya Forsling (1993) menyatakan bahwa pada stadium diestrus konsentrasi progesteron akan mencapai puncaknya 6 hari setelah

terbentuknya korpus luteum dan akan tetap tinggi selama masa kebuntingan.

Ilustrasi 5. hasil ultrasonografi pada hari ke 30 setelah IB (ternak bunting) terlihat adanya gambaran kontong amnion berwarna hitam bulat dan korpus luteum (Ilustrasi 6.) lonjong warna putih abu-abu dengan diameter ($24,34 \pm 0,35$) mm, hasil analisa hormonal terlihat pada Tabel 1. menunjukkan konsentrasi estrogen rendah ($4,372 \pm 0,101$) pg/ml sedangkan konsentrasi progesteron tinggi ($8,186 \pm 0,120$) ng/ml.

Hasil ultrasonografi pada hari ke 60 setelah IB (ternak bunting) terlihat pada Ilustrasi 7. adanya gambaram bewarna hitam (cairan amnion) dengan putih abu-abu yang panjang (kaki fetus) dan Ilustrasi 8. terlihat gambaran korpus luteum dengan bentuk lonjong berwarna putih abu-abu diameter ($24,74 \pm 0,87$) mm dengan batas jelas, sedangkan hasil analisa hormonal terlihat pada Tabel 1. dimana konsentrasi hormon estrogen ($4,455 \pm 0,194$) pg/ml tetap rendah dan hormon progesteron tetap tinggi ($8,344 \pm 0,142$) ng/ml.

Hunter (1985) bahwa hormon progesteron dikenal sebagai hormon kebuntingan dengan fungsi utama implantasi, menghambat kontraksi uterus, memacu perkembangan kelenjar endometrium, dan mempengaruhi perkembangan pertumbuhan fetus, selanjutnya Lamming and Mann (1995) menyatakan bahwa konsentrasi progesteron merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan atau kegagalan dari kebuntingan.

Folikel hasil ultrasonografi tergambar berbentuk bulat berwarna hitam dibatasi dengan warna putih abu-abu menurut Hafes (1993) dan Bank (1993) folikel merupakan struktur yang berisi cairan (*liquor folliculi*) yang dikelilingi oleh lapisan dalam sel-sel

granulosa dan lapisan luar sel-sel theka, dengan oosit digantungkan dalam antrum oleh pita sel-sel granulosa serta dikelilingi oleh jaringan ovaria.

Cairan tidak memantulkan kembali gelombang suara (non-ekhogenik) sehingga pada layar monitor ultrasonografi akan tampak gambaran hitam dan dikelilingi putih abu-abu karena adanya jaringan ovaria yang ekhogenik/memantulkan kembali gelombang suara (Singh *et al.*, 1998; Beal, 2003). Fricke (2002) mengatakan cairan dalam folikel antrum akan memberikan gambaran hitam pada layar monitor ultrasonografi, dikelilingi oleh jaringan ovaria yang ekhogenik (putih abu-abu), dengan transduser minimum 5 MHz folikel ovaria dengan diameter 2-3 mm dapat ditampilkan pada layar monitor, sehingga dengan teknik ultrasonografi dapat diikuti dinamika perkembangan folikel dari suatu siklus estrus sapi.

Korpus luteum hasil ultrasonografi berbentuk lonjong berwarna putih abu-abu dengan batas yang jelas, korpus luteum akan tampak sebagai daerah ekhogenik yang berbeda di dalam stroma ovaria (Singh *et al.*, 1998). Jaringan keras seperti kartilago atau tulang (fetus), akan memantulkan kembali gelombang suara (ekhogenik), sehingga akan tampak putih pada layar monitor, struktur ekhogenik memantulkan sebagian besar gelombang suara, tergantung pada tingkat kepadatan atau densitas jaringan, sehingga terlihat putih abu-abu (Beal, 2003; Fricke, 2003; Lamb, 2003).

Kantong amnion hasil ultrasonografi tergambar bulat berwarna dengan batas warna putih abu-abu dan didalamnya terdapat warna hitam, hal ini menunjukkan adanya jaringan keras dan cairan, hal ini sesuai dengan pendapat Partodiharjo (1992) kantong amnion berisi cairan yang

konsistensinya kental dan didalamnya terdapat fetus yang sedang berkembang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil ultrasonografi selama siklus estrus dan kebuntingan awal sapi PO, menunjukkan adanya perkembangan folikel dengan diameter pada stadium proestrus ($10,16 \pm 0,60$) mm, stadium estrus ($21,20 \pm 0,57$) mm, stadium metestrus folikel berubah menjadi korpus luteum dengan diameter ($14,96 \pm 0,57$) mm, stadium diestrus ($23,64 \pm 0,37$) mm, bunting 30 hari ($24,34 \pm 0,35$) mm, dan bunting 60 hari ($24,74 \pm 0,87$) mm.

Folikel memberi gambaran bulat berwarna hitam dikelilingi warna putih abu-abu, korpus luteum berwarna putih abu-abu, dan kantong amnion bulat berwarna hitam dikelilingi warna putih abu-abu serta didalamnya terdapat warna putih abu-abu (fetus).

Kadar estrogen (pg/ml) vs progesteron (ng/ml) selama siklus estrus dan kebuntingan awal adalah : a. 19 hari setelah estrus ($8,611 \pm 0,126$ vs $1,422 \pm 0,097$), b. Estrus ($15,844 \pm 0,150$ vs $0,866 \pm 0,100$), c. Metestrus 5 hari setelah IB ($3,667 \pm 0,281$ vs $2,788 \pm 0,153$) ; d. Diestrus 15 hari setelah IB ($4,044 \pm 0,235$ vs $7,076 \pm 0,122$) ; e. Bunting awal 30 hari setelah IB ($4,272 \pm 0,101$ vs $8,186 \pm 0,120$).

Saran

Perlu penelitian lanjutan tentang penggunaan ultrasonografi dalam melihat perkembangan folikel baik primer, sekunder dan tersier. Perbandingan kadar estrogen dan progesteron pada kebuntingan

awal dan kebuntingan akhir perlu juga diteliti lebih mendetail.

DAFTAR PUSTAKA

- Allrich, R.D. 1994. Endocrine and Neural Kontrol of Estrous in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 77:2738-2744.
- Alvarez, P., Spicer, L.J., Chase, C.C., Payton, M.E., Hamilton, T.D., Stewart, R.E., Hammond, A.C., Olson, T.A., and Wettemann, R.P., 2000, "Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in angus, brahman, and senepol cows in a subtropical environment", *J. Anim. Sci.*, 78, 1291 - 1302.
- Anderson, L.H., and Mc Day. 1994. Acute Progesterone Administration Regresses Persistent Dominant Follicles and Improves of Cattle in Which Estrus was Synchronized with Melengestrol Acetate. *J. Anim. Sci.* 72:2955-2961.
- Austin, E.J., Mihm, M., Evans, A.C.O., Ireland, J.L.H., Ireland, J.J., and Roche, J.F., 2002, "Effects of oestradiol and progesterone on secretion of gonadotrophins and health of first wave follicles during the oestrous cycle of beef heifers", *Reproduction*, 124, 531 - 541.
- Banks, M.J. 1993. Applied Veterinary Histology. Copyright by Mosby, Inc., Westline Industrial Drive St. Louis. Missouri. Pp. 456-465.
- Beal, W. E. 2003. Reproductive applications of ultrasound in cattle. *Extension Publication*. Department of Animal and Poultry Sciences, Virginia Tech, USA.
- Benvei, B., Kulcsar, M., Gaspard, A. and Pecs, A., 2004, " Progesterone profiles and oestrous cycle changes following superovulatory treatment of Holstein-Friesian dairy cows in

- a tropical environment”, *Acta. Vet. Hung.*, 52, 489 – 499.
- Berisha, B., Pfaffl, M.W., and Schams, D., 2002, “Expression of estrogen and progesterone receptors in the bovine ovary during estrous cycle and pregnancy”, *Endocrine*, 17, 207 - 214.
- Bo, G.A., Baruselli, P.S., Chesta, P.M., and Martins, C.M., 2006, “The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle”, *Theriogenology*, 65 (1), 89 - 101.
- Bridges, P.J., and Fortune, J.E., 2003, “Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle”, *Domest. Anim. Endocrinol.*, 25 (2), 199 - 214.
- Broodius, B., 2006, “A comparison of Methods for early Pregnancy Diagnosis”, Summarized from Proceedings and Florida Dairy Road Show.
- Burns, P.D., 2002, “The Dairy Cow Heat Cycle”, Colorado State University and U.S. Department of Agriculture cooperating, Fort Collins, Colorado, www.cumgs.colostate.edu/ilm/
- Echternkamp, S.E., Roberts, A.J., Lunstra, D.D., Wise, T., and Spicer, L.J., 2004, “Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births”, *J. Anim. Sci.*, 82, 459 - 471
- Faber, D. C. and Ferre, F. B. 2004. Advancements in reproductive technology in cattle. Publication. Trans Ova Genetics, Sioux Center, Iowa, USA.
- Forsling, M. 1994. The Anatomy of the Reproduction Tract the Physiology of the Menstrual cycle. In. Understanding Common Disorders in Reproductive Endocrinology. Edited by Michael, M. Dooley and Mark P. Baincat. John Wiley and Sons LTD. Baffinslone, Chichester West Sussex, England. Pp.1-21.
- Fricke, P. M. 2002. Scanning the future – Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J. of Dairy Sci.* 85: 1918-1926.
- Fricke, P. M. 2003. Practical application of ultrasound for reproductive management of dairy cattle. *Extension Publication*. Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison, WI, USA.
- Gong, J.G. and Webb, R., 2003, “Control of Ovarian Follicle Development Domestic Ruminants: Its Manipulation to Increase Ovulation Rate and Improve Reproductive Performance”, *Anim. Breed. Abstracts*, 64, 195 - 205.
- Hafes, E.S.E. 1993. Anatomy of Female Reproduction. In. Reproduction in farm animals. Edited by E.S.E. Hafez. Ed. 6th. Lea and Febiger. Philadelphia. Pp.40-48.
- Kimmins, S., and MacLaren, L.A., 2001, “Oestrous cycle and pregnancy effects on the distribution of oestrogen and progesterone receptors in bovine endometrium”, *Plecenta*, 22, 742 - 748.
- Lamb, C. 2003. Reproductive ultrasound for management of beef cattle. Reproductive Management Course Compendium. North Central Research and Outreach Center, University of Minnesota, Grand Rapids, USA.
- Lamming, G.E and G.E Mann. 1995. Progesterone Inhibition of the Development of the Lutheolytic Signal in Cows. *J. Repro. and Fert.* 109:1-5.
- Mann, G., 2003, “Animal Physiology”, Postgraduate Research Associate, George. Mann@nottingham.ac.uk

- Mondal, M., Rajkhowa, C., Prakash, B.S., 2006, "Relationship of plasma estradiol-17 beta, total estrogen, and progesterone to estrus behavior in mithun cows", *Horm. Behav.*, 18, 23 – 28
- Nakao, T. Sugihashi and N, Saga. 1989. Use of Milk Progesterone Enzyme Immunoassay for differential Diagnosis of Follicular Cyst, Luteal Cyst, and Cytic Corpus Luteum in Cows. *Anim. J. Vet. Sci.* 44:888-890.
- Nogueira, M.F., Melo, D.S., Carvalho, L.M., Fuck, E.J., Trica, L.A., Barros, C.M., 2004, "Do high progesterone concentration decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG", *Theriogenology*, 61 (7-8), 1283 - 1290.
- Noseir, W.M.B., 2003, "Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows:the development of 2 versus 3 waves", *J. Reprod. Biol. Endocrinol*, 1, 50 – 60
- Oliveira, J.F., Neves, J.P., Moraes, J.C., Goncalves, P.B., Bahr, J.M., Hernandez, A.G. and Costa, L.F., 2002, "Follicular development and steroid concentrations in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress", *Anim. Reprod. Sci.*, 73 (1-2), 1 – 10.
- Parker, R. and Mathis, C., 2002, "Reproductive Tract Anatomy and Physiology of the Cow", College of Agriculture and Home Economics, B-212.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Fakul K.V.Jur.Repro IPB.Mutiara Sumber Widya Jakarta. Hal. 59-63.
- Perry, G., 2004, "The Bovine Estrous Cycle", Extension Beef Reproduction Management Specialist, South Dakota State University, Cooperative Extension Service, USDA, FS921A
- Putro, P.P. 1990. The Effect in the Cow. Master of Philosophy. Thesis School of Veterinary Status, Murdoch University, Murdoch. Western Australia.
- Prange, R.W. and Duby, R.T., 2004, "Anatomy of the Cow's Reproductive Tract", University of Massachusetts, Dairy Integ. Reprod. Manag., IRM, 1-5.
- Price, C.A., P.D. Carriere, B. Bhotia and Groome. 1995. Comparison of hormonal and Histological Changes During Follicular Growth, As Measured by Ultrasonography in Cattle. *J. Reprod. and Fert.* 103:63-68.
- Pycock, R. 2002. Use of ultrasonography in the normal and sub-fertile mare. *Compendium*. Glasgow University Sonographic Site, Glasgow, UK.
- Robinson, R.S., Mann, G.E., Lamming, G.E., Wathes, D.C., 2001, "Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows", *Reproduction*, 122, 965 – 979.
- Sato, T., Nakada, K., Uciyama, Y., Kimura, Y., Fujiwara, N., Sato, Y., Umeda, M., and Fukukawa, T., 2005, "The effect of pretreatment with different doses of GnRH to synchronize follicular wave on superstimulation of follicular growth in dairy cattle", *J. Reprod. Dev.*, 51, 573 - 578.
- Shemesh, M., 2001, "Actions of gonadotrophins on uterus", *Reproduction*, 121, 835-842.
- Schams, D., and Berisha, B., 2002, "Steroids as local regulators of ovarian activity in domestic

- animals”, *Domest. Anim. Endocrinol*, 23, 53 - 65.
- Singh, J., R. A. Pierson, and G. P. Adams. 1998. Ultrasound images attributes of bovine ovarian follicles and endocrine and functional correlates. *J. of Reprod. and Fert.* 119: 19-29.
- Short, R.V. 1984. Oestrous and menstrual cycles. In. *Reproduction in Mammals. Book 3. Hormonal Control of Reproduction.* Edited by C.R.Austin and R.V.Short.FRS. Cambridge University Press.Cambridge. Pp.115-137.
- Spencer, T.E., and Bazer, F.W., 2002, “Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy”” *Front. Biosci.*, 7, 1879 - 1898.
- Ulberg, L.C. 1993. Reproduction of cattle . In. *Reproduction in farm animals.*Edited by E.S.E. Hafez.Ed.6th.Lea and Febiger.Philadelphia. Pp.255-265.
- Wathes, D.C., Taylor, V.J., Cheng, Z., and Mann, G.E., 2003, “Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows”, *Reproduc. Supplement*, 61, 1-19.
- Wattiaux, M.A., 2003, “*The Reproductive Function of Dairy Cattle*”, Babcock Institute for International Dairy Research and Development, University of Wisconsin-Madison.babcock@calshp.cals.wisc.edu